

OBSAH

1. Úvod	7
2. Cíl metodiky.....	8
3. Vlastní popis metodiky	9
3.1 Pre-analytická fáze.....	9
3.1.1 Odběr vzorků, přeprava vzorků.....	9
3.1.2 Příjem vzorků do laboratoře	10
3.2 Analytická fáze.....	10
3.2.1 Izolace RNA	10
3.2.2 Příprava cDNA	13
3.2.3 Real-time PCR detekce	14
3.2.3.1. Úvod	14
3.2.3.2. Materiál	15
3.2.3.3. Sestavení vlastní real-time PCR reakce.....	16
3.2.3.4. Poznámka pro uživatele jiného typu real-time PCR cyklu.....	19
3.3 Post-analytická fáze	19
3.3.1 Vyhodnocování, analýza dat	19
3.3.1.1. Vyhodnocení PCR běhu u přístroje Rotor-Gene Q	19
3.3.1.2. Vyhodnocení systému kontrol kvality.....	20
3.3.1.3. Akceptace a interpretace výsledků	21
3.3.2 Poznámka pro uživatele jiného typu real-time PCR cyklu	21
3.4 Validace metody.....	21
3.4.1 Stanovení specifity	22
3.4.2 Stanovení analytické senzitivity.....	23
3.4.3 Stanovení opakovatelnosti.....	23
3.4.4 Stanovení reprodukovatelnosti	24
3.4.5 Zjednodušený validační protokol	25
4. Srovnání novosti postupů	26
5. Popis uplatnění certifikované metodiky.....	27
6. Ekonomické aspekty	28
7. Seznam použité související literatury.....	30
8. Seznam publikací, které předcházely metodice	31